

白金ポルフィリンのりん光寿命を利用した細胞内酸素濃度分布の測定

大倉 一郎

東京工業大学 大学院生命理工学研究科

本研究では、細胞内酸素濃度分布を明らかにすることを目的とし、測定手法の開発を行った。たとえば、核周辺と細胞質との酸素濃度に相違がある場合や核周辺と細胞内小器官との酸素濃度の相違がある場合を考えると、細胞内部の酸素濃度は一定とは言えず、分布を持っている可能性がある(図1)。しかしながら、有効な測定手法がなく細胞内部に酸素濃度差があるかどうかさえもわかっていない。そこで、ポルフィリンのりん光寿命測定法を応用した測定装置を開発し、細胞内酸素濃度分布の可視化をおこなった。りん光を利用した酸素センシングでは、りん光強度を利用する場合とりん光寿命を利用する場合とがある。しかしながら、りん光強度は酸素濃度だけではなく、ポルフィリンの濃度にも依存する。図2に細胞に白金ポルフィリンを取り込ませた後の顕微鏡写真とりん光強度の蔵を示す。りん光強度像を見ると、りん光強度が強い(明るい)部分と弱い部分がある。細胞内でのりん光強度の差は酸素濃度ではなく、白金ポルフィリンの濃度に依存している可能性が高く、正確な酸素濃度を測定する事はできない。一方、寿命はポルフィリン濃度に依存しないので、細胞内でポルフィリンが局在化した場合でも酸素濃度を正確に測定することができる(図3)。りん光強度の経時変化を図4に示す。MH134細胞にPt(II)-tetra-(carboxyphenyl)-porphyrinを2時間接触後に測定した。パルス照射後、30・s後まで17枚の画像を取得した。得られた画像データの全pixelについて寿命計算を行った。図5に、任意の1pixelに対して行った計算結果を示す。画像が17あるので、1pixel当たり17点の測定データが得られる。これらのデータ点は1次の減衰を示した。求めたりん光寿命をもとに細胞内の酸素濃度分布を画像化した(図6)。細胞質内は細胞膜内より酸素濃度が高いことがわかった。

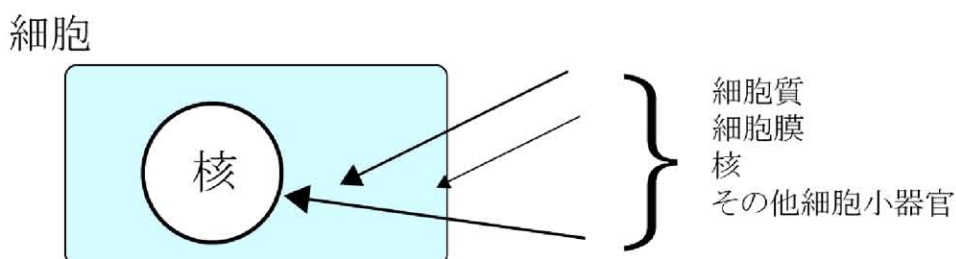


図1 細胞内の模式図

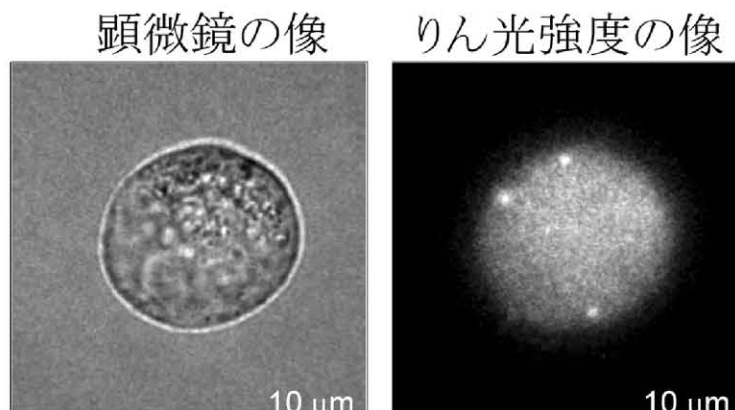


図2 白金ポルフィリンを取り込ませた後の顕微鏡写真(左図)とりん光強度の像(右図)

りん光寿命測定法と測定装置の構築

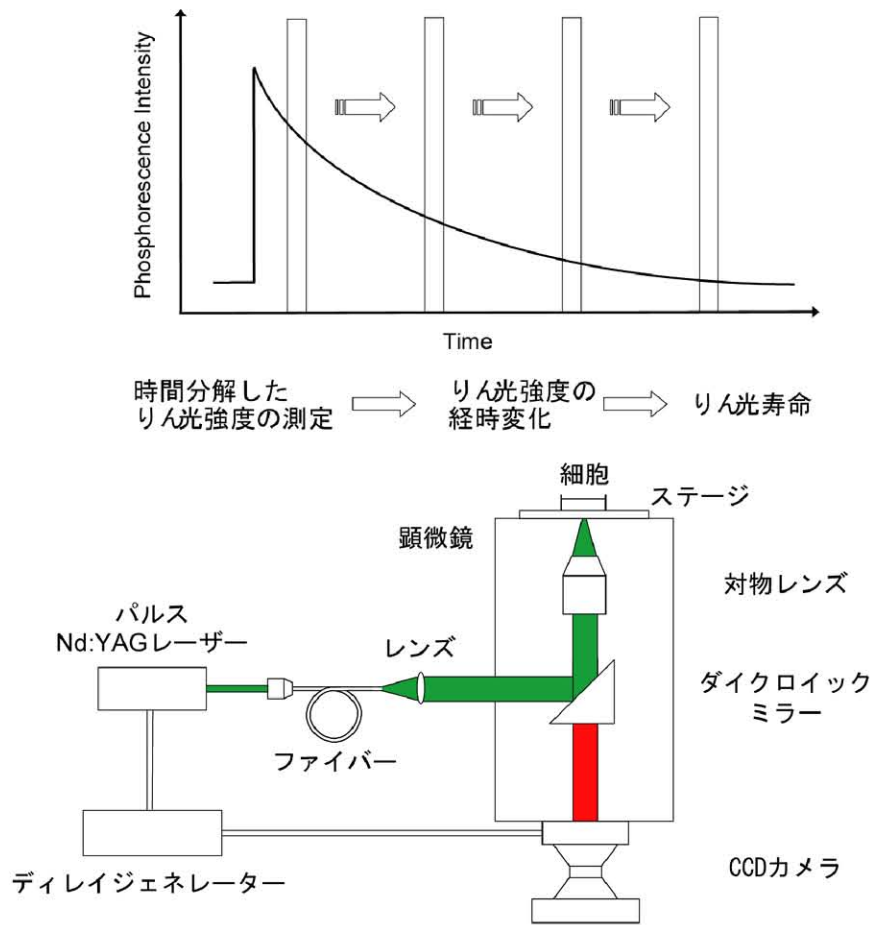


図3 ポルフィリンのりん光寿命測定法を応用した測定装置

りん光強度の経時変化

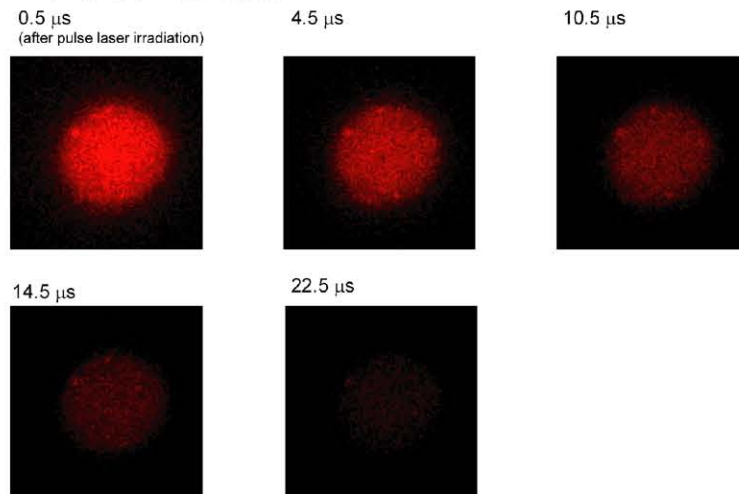
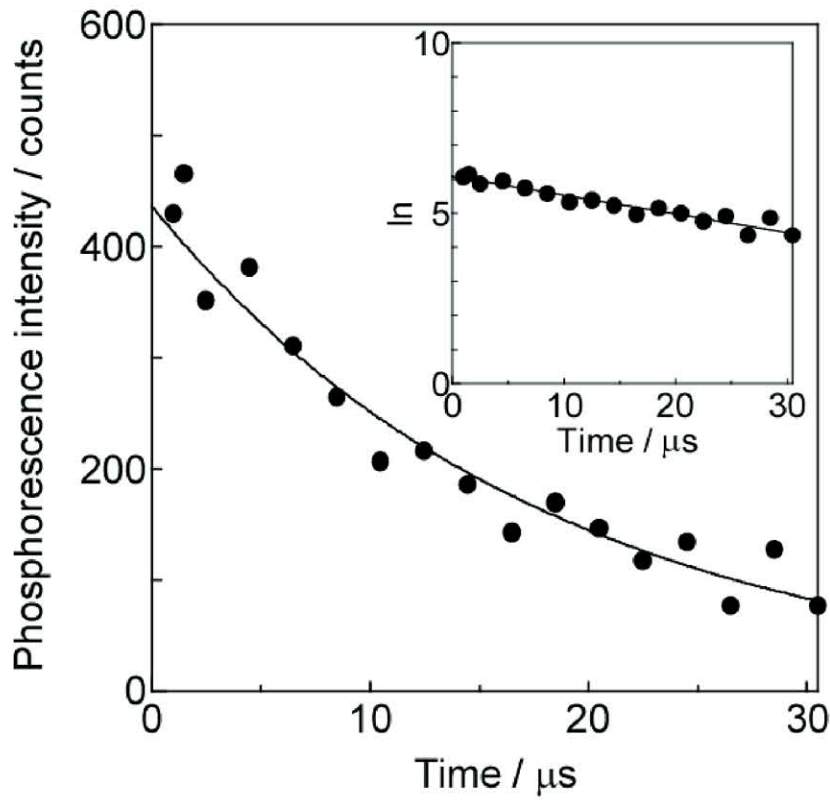


図4 りん光強度の経時変化



$$I(t) = I_0 \exp(-t/\tau)$$

りん光寿命

18.2 μs

図5 りん光寿命の算出

細胞内酸素濃度分布の可視化

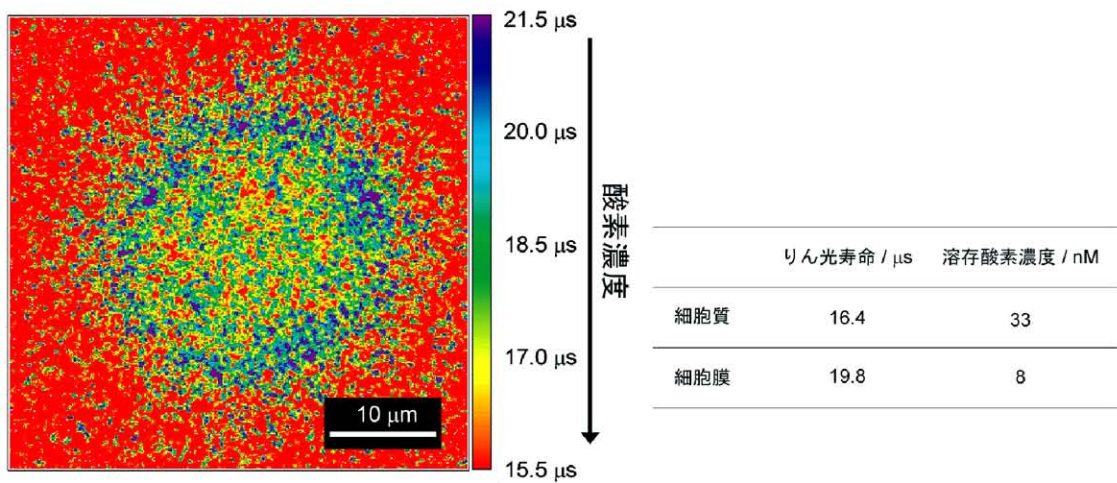


図6 細胞内酸素濃度分布の可視化